

ФАРМАКОЛОГИЯ, КЛИНИЧЕСКАЯ ФАРМАКОЛОГИЯ

В. Ю. Анисимов

ПАРОДОНТОПРОТЕКТОРНОЕ ДЕЙСТВИЕ ГЕКСАФТОРОСИЛИКАТОВ 2-, 3-, 4-ПИРИДИНУКСУСНОЙ КИСЛОТЫ И 2,4-ДИАМИНО-6-ГИДРОКСИПИРИМИДИНА У КРЫС

Одесский национальный медицинский университет, г. Одесса, Украина

В работе определяли пародонтопротекторное действие оральных аппликаций геля, содержащего гексафторосиликаты 2-пиридинуксусной кислоты (ГФС-2-ПУК), 3-пиридинуксусной кислоты (ГФС-3-ПУК), 4-пиридинуксусной кислоты (ГФС-4-ПУК) и 2,4-диамино-6-гидроксипиримидина (ГФС-ДАГП) у крыс, которых содержали на кариесогенном (высокосахарозном) рационе. Состояние десны оценивали по уровню маркеров воспаления (МДА, эластаза), микробной обсемененности (уреазы), неспецифического иммунитета (лизоцим), антиоксидантной защиты (каталаза), а также по степени дисбиоза и индекса АПИ. Результаты исследований показали, что КГР вызывает увеличение активности лизоцима и уреазы в десне, степени дисбиоза и снижение активности каталазы и индекса АПИ. Оральные аппликации гелей снижают в десне активность уреазы и содержание МДА. Таким образом, результаты изучения свойств гексафторосиликатов 2-, 3-, 4-пиридинуксусной кислоты свидетельствуют об их пародонтопротекторном действии, причем наиболее перспективным объектом дальнейшего изучения является ГФС-4-ПУК.

Ключевые слова: гексафторосиликаты пиридинуксусной кислоты, кариес, пародонт, дисбиоз.

ВВЕДЕНИЕ

В последние годы в качестве потенциальных кариеспротекторных агентов активно изучаются гексафторосиликат аммония [1–3] и гексафторосиликаты органических «ониевых» катионов [4, 5], которые обладают определенными преимуществами перед традиционными фторидными средствами лечения и профилактики кариеса.

Ранее нами было показано, что цетилпиридиния гексафторосиликат оказывает пародонтопротекторное действие у крыс, получавших кариесогенный рацион (КГР) [6, 7]. При этом существенно снижалась степень дисбиоза в десне, повышенная у крыс, получавших КГР, и достоверно возрастал минерализующий индекс (соотношение щелочной и кислой фосфатаз ЩФ/КФ) в костной ткани.

Целью настоящей работы стало определение пародонтопротекторного действия новых комплексных соединений гексафторосиликата с изомерами пиридинуксусной кислоты (ПУК).

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Гели на основе карбоксиметилцеллюлозы, содержащие фторид натрия (NaF), гексафторосиликаты аммония (ГФС-NH₃), 2-пиридинуксусной кислоты (ГФС-2-ПУК), 3-пиридинуксусной кислоты (ГФС-3-ПУК), 4-пиридинуксусной кислоты (ГФС-4-ПУК) и 2,4-диамино-6-гидроксипиримидина (ГФС-ДАГП), готовили согласно ТУ [8]. Концентрации действующих веществ в геле соответствовали дозе фтора 1,88 мг/кг.

Исследования на животных проводили с соблюдением положений «Европейской конвенции о защите позвоночных животных, используемых для экспериментальных и других научных целей» (Страсбург, 1986 г.) и Закона Украины «О защите животных от жестокого обращения» (Украина, 2006 г.). Эксперименты были проведены на 56 белых крысах линии Вистар (самки, 1 мес., средняя живая масса 40±1,5 г), распределенных в 8 равных групп (таблица 1). Крысы 2–8 групп содержались на КГР Стефана (сахароза 50%) [9]. Всем крысам опытных групп

(3–8 группы) и контрольной группы (группа 2) ежедневно в течение 30 дней (за исключением воскресений) делали оральные аппликации гелей с препаратами в дозе 0,3 мл на один прием, покрывая гелем зубы и десны. После аппликации крыс в течение 1 часа не кормили.

Эвтаназию животных осуществляли на 31-й день опыта под тиопенталовым наркозом (20 мг/кг) путем тотального кровопускания их сердца.

У крыс иссекали десну, которую хранили до исследования при температуре минус 30°C. В гомогенатах десны (20 мг/мл 0,5 М трис-HCl буфера, pH 7,5) определяли уровень маркеров воспаления [10]: активность эластазы [11] и содержание малонового диальдегида (МДА) [12], показатель микробного обсеменения – активность уреазы [13], индикатор неспецифического иммунитета – активность лизоцима [14], активность антиоксидантного фермента каталазы [15]. По соотношению относительных активностей уреазы и лизоцима рассчитывали степень дисбиоза по Левицкому [16], а по соотноше-

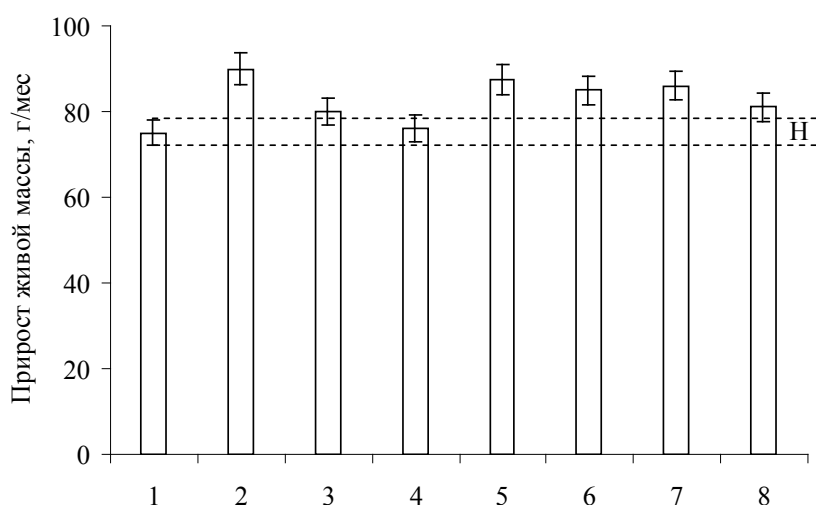
нию активности каталазы и содержанию МДА рассчитывали антиоксидантно-прооксидантный индекс (АПИ) [10].

Кроме того, определяли живую массу крыс в первый и в последний день опыта, а в препаратах нижней челюсти определяли степень атрофии альвеолярного отростка по Николаевой [17].

Результаты исследований подвергали стандартной статистической обработке, рассчитывали среднеарифметическое (М), ошибку среднеарифметического ($\pm m$). Сравнение показателей в группах производили по t-критерию Стьюдента. За достоверные различия принимали данные с $p < 0,05$ [18].

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

На рисунке 1 представлены результаты определения прироста живой массы крыс за 30 дней опыта, из которого видно, что достоверных отличий от нормы не наблюдается, хотя определенная тенденция к увеличению прироста живой массы крыс, получавших КГР, имеется.



1 – норма; 2 – плацебо; 3 – NaF; 4 – ГФС-NH₃; 5 – ГФС-2-ПУК; 6 – ГФС-3-ПУК; 7 – ГФС-4-ПУК; 8 – ГФС-ДАГП.

Рисунок 1 – Влияние фторпрепаратов на прирост живой массы крыс, получавших КГР

В таблице 1 представлены результаты определения в десне маркеров воспаления, из которых видно, что лишь один из маркеров, а именно МДА, значительно возрастает (в 3,2 раза) у крыс, получавших КГР. Все испытанные гели гексафторосиликатов достоверно снижают уровень МДА, причем больше всех – ГФС-4-ПУК, а слабее всех – ГФС-NH₃.

Уровень активности эластазы в десне крыс, получавших КГР, достоверно возрастает, однако аппликации гелей, содержащих ГФС с ПУК или ДАГП, вызывают значительное увеличение активности эластазы. Учитывая, что эластаза является маркером нейтрофилов [11], можно полагать, что рост ее активности в десне – это результат иммиграции нейтрофилов,

которая, по-видимому, усиливается под влиянием испытуемых препаратов.

В таблице 2 представлены результаты определения активности уреазы и лизоцима в десне крыс. Видно, что у крыс, получавших КГР, более чем в 2 раза возрастает активность уреазы, свидетельствующая о росте микробной обсемененности [13]. Все

испытанные фторпрепараты снижают активность уреазы в десне: больше всех NaF и ГФС-NH₃, а меньше всех ГФС-4-ПУК.

Уровень активности лизоцима повышается при действии всех испытанных фторпрепаратов, за исключением ГФС-4-ПУК, который достоверно снижает его уровень.

Таблица 1 – Влияние фторпрепаратов на уровень маркеров воспаления в десне крыс, получавших КГР ($M \pm m$, $n=7$ во всех группах)

№ п/п	Группы	Эластаза, мкат/кг	МДА, ммоль/кг
1	Норма	0,47±0,05	8,15±0,46
2	КГР + гель-плацебо	0,69±0,08 $p<0,05$	26,01±1,27 $p<0,001$
3	КГР + гель-NaF	0,50±0,08 $p>0,5$; $p_1>0,05$	8,06±0,72 $p>0,8$; $p_1<0,001$
4	КГР + гель-ГФС-NH ₃	0,68±0,09 $p>0,05$; $p_1>0,8$	17,68±0,79 $p<0,01$; $p_1<0,05$
5	КГР + гель-ГФС-2-ПУК	1,22±0,12 $p<0,01$; $p_1<0,05$	9,79±0,76 $p>0,05$; $p_1<0,01$
6	КГР + гель-ГФС-3-ПУК	1,48±0,14 $p<0,01$; $p_1<0,01$	8,15±0,86 $p=1$; $p_1<0,001$
7	КГР + гель-ГФС-4-ПУК	1,16±0,11 $p<0,01$; $p_1<0,05$	7,69±0,79 $p>0,5$; $p_1<0,001$
8	КГР + гель-ГФС-ДАГП	1,36±0,12 $p<0,01$; $p_1<0,01$	11,36±0,65 $p<0,05$; $p_1<0,01$

Примечание: p – в сравнении с гр. 1, p_1 – в сравнении с гр. 2.

Таблица 2 – Влияние фторпрепаратов на активность уреазы и лизоцима в десне крыс, получавших КГР ($M \pm m$, $n=7$ во всех группах)

№ п/п	Группы	Уреазы, мк-кат/кг	Лизоцим, ед/кг
1	Норма	1,59±0,22	41±3
2	КГР + гель-плацебо	3,47±0,15 $p<0,01$	50±4 $p>0,05$
3	КГР + гель-NaF	1,30±0,24 $p>0,3$; $p_1<0,05$	113±7 $p<0,01$; $p_1<0,01$
4	КГР + гель-ГФС-NH ₃	1,27±0,20 $p>0,3$; $p_1<0,01$	95±13 $p<0,05$; $p_1<0,05$
5	КГР + гель-ГФС-2-ПУК	1,58±0,21 $p>0,9$; $p_1<0,01$	132±23 $p<0,01$; $p_1<0,01$
6	КГР + гель-ГФС-3-ПУК	1,82±0,20 $p>0,3$; $p_1<0,01$	63±5 $p<0,05$; $p_1<0,05$
7	КГР + гель-ГФС-4-ПУК	2,28±0,21 $p>0,05$; $p_1<0,05$	31±7 $p>0,05$; $p_1<0,05$
8	КГР + гель-ГФС-ДАГП	1,86±0,22 $p>0,05$; $p_1<0,01$	48±15 $p>0,3$; $p_1>0,6$

Примечание: p – в сравнении с гр. 1, p_1 – в сравнении с гр. 2.

На основании этих данных была рассчитана степень дисбиоза десны по Левицкому (рисунок 2). Из этих данных следует, что все препараты (кроме ГФС-4-ПУК) обладают выраженной антимикробной активностью, многократно снижая степень дисбиоза.

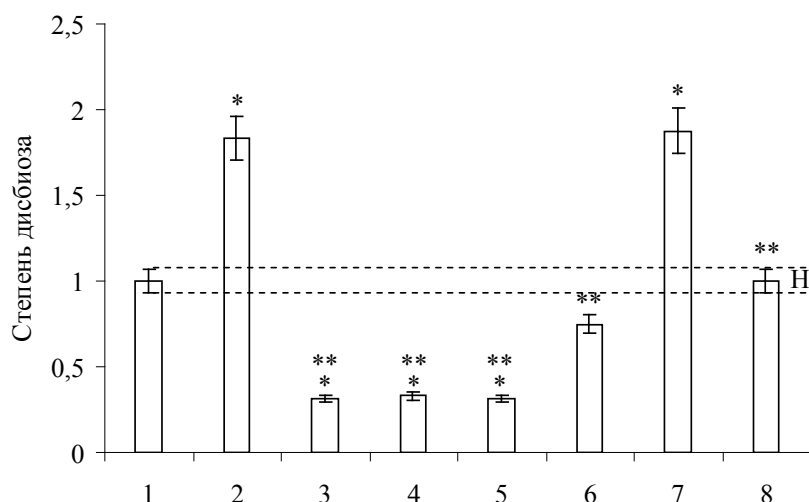
В таблице 3 представлены результаты определения активности каталазы и индекса АПИ. Видно, что у крыс, получавших КГР, достоверно снижается уровень каталазы, а все фторпрепараты (кроме ГФС-ДАГП) достоверно его увеличивают. Более четкие изменения происходят с индексом АПИ: у крыс, получавших КГР, он снижается более чем в 3 раза, фторпрепараты его увеличивают в 2–6 раз.

На рисунке 3 представлены результаты определения степени атрофии аль-

веолярного отростка нижней челюсти. Видно, что все фторпрепараты снижают атрофию, причем в наибольшей степени ГФС-2-ПУК и ГФС-4-ПУК, а в наименьшей степени NaF.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, результаты изучения свойств гексафторосиликатов 2-,3-,4-пиридинуксусной кислоты и 2,4-диамино-6-гидроксипиримидина свидетельствуют об их пародонтопротекторном действии и позволяют отнести эту группу соединений к потенциальным средствам лечения и профилактики заболеваний кариеса и пародонта, причем наиболее перспективным объектом дальнейшего изучения является ГФС-4-ПУК.



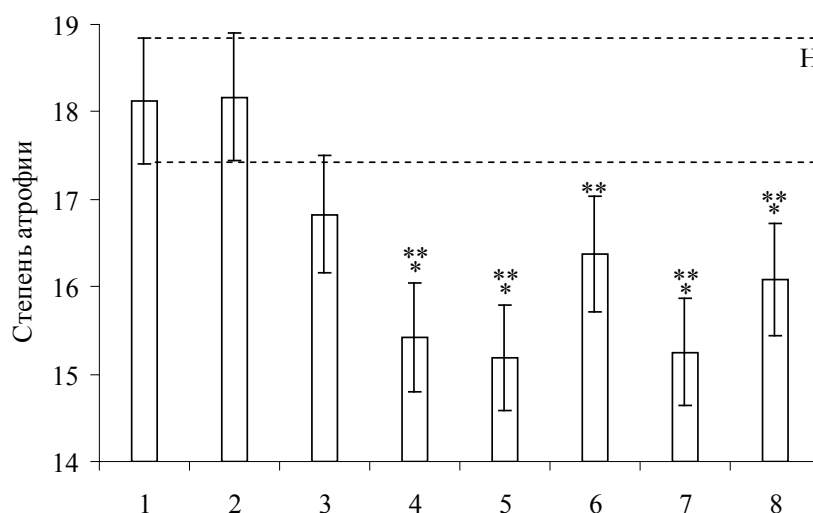
1 – норма; 2 – плацебо; 3 – NaF; 4 – ГФС-NH₃; 5 – ГФС-2-ПУК; 6 – ГФС-3-ПУК; 7 – ГФС-4-ПУК; 8 – ГФС-ДАГП; * – $p < 0,05$ в сравнении с гр. 1; ** – $p < 0,05$ в сравнении с гр. 2.

Рисунок 2 – Влияние фторпрепаратов на степень дисбиоза в десне крыс, получавших КГР

Таблица 3 – Влияние фторпрепаратов на активность каталазы и индекс АПИ в десне крыс, получавших КГР ($M \pm m$, $n=7$ во всех группах)

№ п/п	Группы	Каталаза, мкат/кг	АПИ
1	Норма	$8,75 \pm 0,14$	$10,7 \pm 1,5$
2	КГР + гель-плацебо	$8,04 \pm 0,29$ $p < 0,05$	$3,1 \pm 0,4$ $p < 0,01$
3	КГР + гель-NaF	$10,25 \pm 0,36$ $p < 0,05$; $p_1 < 0,05$	$12,7 \pm 1,4$ $p > 0,3$; $p_1 < 0,01$
4	КГР + гель-ГФС-NH ₃	$10,09 \pm 0,69$ $p < 0,05$; $p_1 < 0,05$	$5,7 \pm 0,5$ $p < 0,01$; $p_1 < 0,05$
5	КГР + гель-ГФС-2-ПУК	$10,27 \pm 0,19$ $p < 0,05$; $p_1 < 0,05$	$10,5 \pm 1,3$ $p > 0,5$; $p_1 < 0,01$
6	КГР + гель-ГФС-3-ПУК	$9,35 \pm 0,47$ $p > 0,05$; $p_1 < 0,05$	$11,5 \pm 1,5$ $p > 0,3$; $p_1 < 0,05$
7	КГР + гель-ГФС-4-ПУК	$9,41 \pm 0,35$ $p > 0,05$; $p_1 < 0,05$	$12,2 \pm 1,5$ $p > 0,05$; $p_1 < 0,01$
8	КГР + гель-ГФС-ДАГП	$8,67 \pm 0,33$ $p > 0,3$; $p_1 > 0,3$	$7,6 \pm 0,93$ $p < 0,05$; $p_1 < 0,01$

Примечание: p – в сравнении с гр. 1, p_1 – в сравнении с гр. 2.



1 – норма; 2 – плацебо; 3 – NaF; 4 – ГФС-NH₃; 5 – ГФС-2-ПУК; 6 – ГФС-3-ПУК; 7 – ГФС-4-ПУК; 8 – ГФС-ДАГП; * – $p < 0,05$ в сравнении с гр. 1; ** – $p < 0,05$ в сравнении с гр. 2.

Рисунок 3 – Влияние фторпрепаратов на степень атрофии альвеолярного отростка в десне крыс, получавших КГР

SUMMARY

V. Yu. Anisimov
 PARODONTIUM ACTION OF
 HEXAFLUOROSILICATES
 OF 2-, 3-, 4-PYRIDINEACETIC
 ACID AND 2,4-DIAMINO-6-
 HYDROXYPYRIMIDINE IN RATS

In the paper parodontium action of oral applications of gel containing hexafluorosilicates of 2-pyridineacetic acid (HFS-2-PAA), 3-pyridineacetic acid (HFS-3-PAA), 4-pyridineacetic acid (HFS-4-PAA), and 2,4-diamino-6-hydroxypyrimidine (GFS-DAHP) in rats kept on cariogenic (high levels of sucrose) diet was determined. Status gums were evaluated by the level of inflammatory markers (MDA, elastase), microbial contamination (urease), nonspecific immunity (lysozyme), antioxidant protection (catalase), as well as by the degree of dysbiosis and API index. The results showed that the cariogenic diet causes an increase in lysozyme and urease activity in the gums, the degree of dysbiosis and decrease of the activity of catalase and API index. Oral application of gels reduces gum urease activity and MDA content. Thus, the results of studying the properties of hexafluorosilicates of 2-, 3-, 4-pyridineacetic acid indicate their parodontium action, the most promising is the subject of further study of HFS-4-PAA.

Keywords: hexafluorosilicates of pyridineacetic acid, dental caries, parodontium, dysbiosis.

ЛИТЕРАТУРА

1. Ammonium hexafluorosilicate elicits calcium phosphate precipitation and shows continuous dentin tubule occlusion / T. Suge [et al.] // *Dent. Mater.* – 2008. – V. 24, № 2. – P. 192–198.
2. Effects of ammonium hexafluorosilicate application on demineralization enamel and dentin of primary teeth / Y. Hosoya [et al.] // *J. Oral Science.* – 2012. – V. 54, № 3. – P. 267–272.
3. Effect of ammonium hexafluorosilicate application for arresting caries treatment on demineralized primary tooth enamel / Y. Hosoya [et al.] // *J. Oral Science.* – 2013. – V. 55, № 2. – P. 115–121.
4. Gelmboldt, V.O. Hexafluorosilicates with antibacterial active guanidine containing cations / V. O. Gelmboldt, V. Yu. Anisimov, O. V. Prodan // *News of Pharmacy.* – 2014. –

№ 3(79). – P. 42–45.

5. Gelmboldt, V. O. Synthesis and characterization of cetylpyridinium hexafluorosilicate as new potential caries protecting agent / V. O. Gelmboldt, O. V. Prodan, V. Yu. Anisimov // *Am. J. PharmTech. Res.* – 2014. – V. 4, № 6. – P. 513–521.

6. Экспериментальная оценка токсичности «ониевых» гексафторосиликатов / В. В. Лепский [и др.] // *Одесский медицинский журнал.* – 2015. – № 5 (151). – С. 28–31.

7. Анисимов, В. Ю. Антидисбиотическое и минерализующее действие гексафторосиликата, содержащего цетилпиридиний, на ткани пародонта крыс, получавших кариесогенный рацион / В. Ю. Анисимов // *Вестник фармации.* – 2015. – № 4 (70). – С. 81–86.

8. Рецептатура РЦ У 20.4-13903778-032/10:2015 «Фитогель «Фторсиликат» к ТУ У 20.4-13903778-032:2012 «Фитогели». Заключение МЗУ № 05.03.02-07/49087 от 30.10.2015 г.

9. Експериментальне вивчення токсичної дії та специфічної ефективності засобів для догляду за порожниною рота: методичні рекомендації // Т. П. Терешина [та інш.] – К.: ДФЦ МОЗУ, 2003. – 42 с.

10. Биохимические маркеры воспаления тканей ротовой полости: методические рекомендации / А. П. Левицкий [и др.]. – Одесса: КП ОГТ, 2010. – 16 с.

11. Левицкий, А. П. Методы определения активности эластазы и ее ингибиторов: методические рекомендации / А. П. Левицкий, А. В. Стефанов. – К.: ГФЦ, 2002. – 15 с.

12. Стальная, И. Д. Метод определения малонового диальдегида с помощью тиобарбитуровой кислоты / И. Д. Стальная, Т. Г. Гаришвили // *Современные методы в биохимии.* – М.: Медицина, 1977. – С. 66–68.

13. Гаврикова, Л. М. Уреазная активность ротовой жидкости у больных с острой и хронической инфекцией челюстно-лицевой области / Л. М. Гаврикова, И. Т. Сегень // *Стоматология.* – 1996. – Спецвыпуск. – С. 49–50.

14. Левицкий, А. П. Лизоцим вместо антибиотиков / А. П. Левицкий. – Одесса: КП ОГТ, 2005. – 74 с.

15. Гирин, С. В. Модификация метода определения активности каталазы в биологических субстратах / С. В. Гирин // *Лабораторная диагностика.* – 1999. – № 4. – С. 45–46.

16. Спосіб оцінки ступеня дисбіозу (дисбактеріозу) органів і тканин: корисна модель 43140 Україна: МПК (2009) G01N 33/48 / А. П. Левицький [та інш.]; дата публ.: 10.08.2009, Бюл. № 15.

17. Николаева, А. В. Экспериментальные дистрофии тканей пародонта / А. В. Николаева, Е. С. Розовская // БЭБИМ. – 1965. – т. 60, № 7. – С. 46–49.

18. Трухачева, Н. В. Математическая статистика в медико-биологических исследованиях с применением пакета Statistica /

Н. В. Трухачева. – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2012. – 379 с.

Адрес для корреспонденции:

65082, Украина,
г. Одесса, Валиховский пер., 2,
Одесский национальный
медицинский университет,
кафедра фармацевтической химии,
тел.: +38 (048) 718-53-61,
e-mail: vladimiranisimov@ukr.net,
Анисимов В. Ю.

Поступила 27.05.2016 г.

**В. М. Насек, О. В. Винникова, Е. В. Санько-Счисленок,
М. В. Макаренко, П. Т. Петров**

**ДОКЛИНИЧЕСКИЕ ТОКСИКОЛОГИЧЕСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ НОВОГО
ЛЕКАРСТВЕННОГО СРЕДСТВА АНТИРЕФЛЮКСНОГО ДЕЙСТВИЯ
«АЛЬГИНОМАКС»**

**Государственное научное учреждение «Институт биоорганической химии
Национальной академии наук Беларуси», г. Минск, Республика Беларусь**

Проведено доклиническое токсикологическое исследование безопасности нового антацидного лекарственного средства «АльгиноМАКС», обладающего антирефлюксным действием. Разработанное антацидное средство не вызывает летальности у самцов и самок мышей и крыс при однократном интрагастральном (per os) и внутрибрюшинном (в/б) введении в дозах до 5,5 г/кг (VI класс токсичности по классификации OECD). Установлено, что лекарственное средство «АльгиноМАКС» не обладает отрицательными нейротропными, кардиотропными, гематропными и органотропными эффектами при ежедневном 60-суточном per os введении в дозах до 2 г/кг, не оказывает местно-раздражающего действия на слизистую желудочно-кишечного тракта в дозах, 4-кратно превосходящих рекомендуемые для применения у человека. По исследованным показателям антенатального развития, «АльгиноМАКС» не обладает эмбриотоксическим действием.

Ключевые слова: антирефлюксное антацидное средство, лекарственная форма, токсичность острая, субхроническая, хроническая, аллергенность, гемокоагулограмма, сенсибилизация, эмбриотоксичность, гонадотоксичность, лабораторные животные.

ВВЕДЕНИЕ

АльгиноМАКС является комбинированным антацидным средством, обладающим антирефлюксными, адсорбирующими, обволакивающими и кислотонейтрализующими свойствами. Лекарственное средство (ЛС) предназначено для лечения различных форм гастроэзофагеальной рефлюксной болезни (ГЭРБ). АльгиноМАКС разработан в рамках Государственной программы «Импортозамещающая фармпродукция» [1, 2].

Активная фармацевтическая субстанция препарата представляет собой композицию натрия альгината, калия гидрокарбоната (KHCO_3), кальция карбоната (CaCO_3), магния гидроксида (Mg(OH)_2). В качестве вспомогательных веществ использованы гидроксипатит, макрогол 4000 (полиэтиленгликоль 4000), коповидон (коллидон VA 64), магния стеарат, сорбитол, натрия сахаринат и ароматизатор. ЛС «АльгиноМАКС» представляет собой мятную жевательную таблетку массой 1000 мг. Важным компонентом ЛС является натрия